#### DOI: 10.20103/j.stxb.202409122215

陆秋名,张云海.不同氮化合物组合添加对灰绿藜生长影响的盆栽研究.生态学报,2025,45(13): Lu Q M, Zhang Y H.A pot experiment on the effect of nitrogen compound combinations on the growth of Chenopodium glaucum L..Acta Ecologica Sinica,  $2025.45(13) \cdot -$ 

# 不同氮化合物组合添加对灰绿藜生长影响的盆栽研究

陆秋名1,2,张云海1,2,\*

1 中国科学院植物研究所植被与环境变化国家重点实验室,北京 100093 2 中国科学院大学,北京 100049

摘要:人类活动显著地增加了大气氮沉降总量并改变其氮化合物组分。然而,目前尚不清楚不同氮化合物及其组配对植物生长 的影响及机制。通过添加大气氮沉降中主要四种氮化合物形态(铵态氮、硝态氮、尿素和甘氨酸)及其等比例组合与对照共16 种处理的温室盆栽实验,探究对灰绿藜(Chenopodium glaucum L.)生长的影响。研究发现氮添加增加了灰绿藜地上与地下生物 量及植株总生物量。与对照相比仅有机氮组合(尿素+甘氨酸)添加显著增加植物地上生物量和总生物量;无机氮与甘氨酸(碳 酸氢铵+硝酸钙+甘氨酸)组合添加显著增加了地下生物量。结构方程模型表明不同氮化合物及其组合的氮添加会增加土壤铵 态氮含量,增加植物叶片光合能力和茎粗共同促进植物生长,但是会抑制地下根系生长。研究建议在群落和生态系统水平开展 类似的氮沉降模拟实验研究,以更准确地评估大气氮沉降对生态系统结构和功能的影响。

关键词:氮组分及比例;初级生产力;植物生理生态;有机氮;无机氮;甘氨酸

## A pot experiment on the effect of nitrogen compound combinations on the growth of Chenopodium glaucum L.

LU giuming<sup>1,2</sup>, ZHANG yunhai<sup>1,2,\*</sup>

1 State Key Laboratory of Vegetation and Environmental Change, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: Human activities have significantly increased global atmospheric nitrogen (N) deposition, altering its compound composition. However, our understanding of how N compound composition affects plant growth remains limited. We conducted a greenhouse pot experiment with 16 treatments—control and N addition at 10 g N m<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup> with four predominant compounds (ammonium, nitrate, urea, and glycine) found in atmospheric N deposition and their mixtures-to investigate their impact on the growth of Chenopodium glaucum L. The results showed that regardless of the N compound composition added, N addition enhanced plant above-ground (AGB) and below-ground (BGB) biomass, as well as total biomass (TB). Notably, only the combined organic-N (urea+glycine) treatment significantly boosted AGB and TB, whereas the blend of inorganic-N (ammonium+nitrate) along with glycine addition notably stimulated BGB. Structural equation modeling revealed that, irrespective of the N compound composition added, N addition stimulated plant growth by directly elevating soil ammonium levels and concurrently augmenting the photosynthetic potential of leaves and stem girth, although elevated soil ammonium levels due to N addition diminished BGB. These findings suggest that the composition of N compounds has significantly effects on plant growth. Therefore, similar treatments should be conducted at the community and ecosystem levels to more accurately assess the impacts of atmospheric N deposition on ecosystem structure and functioning.

基金项目:中国科学院战略性先导科技专项(A类)"创建生态草牧业科技体系"(XDA26020101);国家自然科学基金优秀青年科学基金项目 (32122055)

收稿日期:2024-09-12; 网络出版日期:2025-00-00

\* 通讯作者 Corresponding author.E-mail: zhangyh670@ibcas.ac.cn

http://www.ecologica.cn

Key Words: nitrogen composition and proportion; primary productivity; plant physiological ecology; organic nitrogen; inorganic nitrogen; glycine

20世纪 60年代以来,化石燃料使用、农业氮肥施用、畜牧业集约化扩张<sup>[1]</sup>以及城市化过程<sup>[2]</sup>,引起了大量生物活性氮进入大气<sup>[3-4]</sup>,导致全球大气氮沉降显著增加<sup>[5]</sup>。1860年至 2010年,全球氮沉降从 34 Tg N/a 增加至 119 Tg N/a<sup>[1,6]</sup>。我国大气氮沉降在 2011—2015年已经达到(2.04±0.26)g N m<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>,较 1960年增加 了约 60%<sup>[5]</sup>,成为全球氮沉降热点区域<sup>[7]</sup>。如果未来工农业模式不能进一步优化或变革,全球大气氮沉降将 持续增加,在 2050年可能到达 200 Tg N/a<sup>[6]</sup>。大气氮沉降由无机氮和有机氮组成<sup>[8]</sup>,其中无机氮主要包含铵 态氮和硝态氮、有机氮主要包括尿素和游离氨基酸(其中甘氨酸占比最大)<sup>[9]</sup>。近年来,由于各国工业氮氧化 合物排放管理政策以及农业生产实践中对氮素利用效率提高的导向策略等多方面因素,大气氮沉降的氮化合 物组分及比例正在发生变化<sup>[8,10-11]</sup>。例如,1980年到 2019年,铵态氮在全球氮沉降中的占比呈上升趋势 (41%—54%)。美国(31%—52%)和西欧(33%—47%)地区均发现类似现象。我国在 2011年以前铵态氮占 比在下降(78%—59%),而后则上升(59%—65%)<sup>[1]</sup>。当前大量研究已经表明植物生长吸收并同化氮 素<sup>[12-13]</sup>,且可能对不同形态氮素及组合存在一定的吸收偏好特性<sup>[14—17]</sup>。因此亟须厘清不同氮化合物及组合 添加对植物生长的影响。

氮输入对植物生长的影响主要受到土壤无机氮含量的调控。例如,近期一项基于草甸生态系统的分析结 果表明无论是无机氮(NH4,NO3和NH4NO3)还是尿素添加均增加了土壤无机氮含量[18]。当添加形态为无机 态氮时,对土壤无机氮增量效应较有机氮更大<sup>[19]</sup>。由于氨化作用和硝化作用相互协同并制约的关系,氮形态 及其比例添加的变化并不直接导致相应的土壤铵态氮与硝态氮比例变化。2011 与 2019 年基于陆地生态系 统的荟萃分析结果均表明,氮添加降低了土壤铵态氮与硝态氮比例<sup>[20-21]</sup>;然而在欧亚典型草原生态系统上自 2015年起连续5年不同比例铵态氮和硝态氮的添加却导致土壤铵态氮与硝态氮比例有不同幅度的升高[22]。 土壤无机氮有效性会影响植物根和茎的形态从而调节养分和水分吸收,以调控植物生长。氮添加对群落中草 本植物生产力具有促进作用,但是存在物种间的差异。例如,在降水正常及湿润年份,典型草原常见多年生植 物如羊草(Leymus chinensis)、大针茅(Stipa grandis)、黄囊薹草(Carex korshinskyi)和羽茅(Achnatherum sibiricum) 地上生物量在 0-20 g N m<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>的氮添加速率一般范围内, 呈单峰曲线, 即先增加到峰值而后下 降<sup>[23-25]</sup>;而一年生植物如轴藜(Axyris amaranthoides)和灰绿藜(Chenopodium glaucum L.)地上生物量则随着 氮添加速率线性增加<sup>[23,26]</sup>。氮添加缓解氮限制以促进植物生长,一般表现为氮添加提高叶片氮浓度<sup>[27]</sup>,提 高叶绿素含量<sup>[28]</sup>,增大对光能吸收、利用和传递效率<sup>[29-30]</sup>,促进植物碳增益<sup>[31]</sup>,以增加生物量形式呈现<sup>[32]</sup>。 然而过量或长期氮添加可能导致土壤富营养化、铵离子毒害、酸化等负效应[33],引起植物中毒、根系简化等现 象,降低植物光合能力<sup>[29]</sup>,最终抑制生长<sup>[34]</sup>。但是,不同氮化合物及组合添加是否会不同程度地改变土壤理 化指标还较少科学报道。

植物对不同氮形态的吸收偏好性可能受到自身基因与土壤微环境理化特性的独立或者协同调控<sup>[29,35]</sup>。 植物生长不仅吸收同化无机氮<sup>[36]</sup>,还直接吸收利用小分子有机氮(如尿素和游离氨基酸)<sup>[37-40]</sup>。碱性土壤中 植物通常偏好吸收硝态氮而酸性土壤中植物偏好吸收铵态氮<sup>[41]</sup>。由于环境限制,北极苔原生态系统中具有 较高生产力的植物物种主要利用铵态氮和甘氨酸,而低生产力植物主要利用硝态氮<sup>[42]</sup>。一些研究发现植物 对不同形态氮添加的响应具有差异。有荟萃分析指出,在陆地生态系统中铵态氮相较硝态氮更能促进乔木和 杂类草的生长,而禾本科植物的响应则相反<sup>[21]</sup>。另外,也有研究表明多种无机氮混合添加相较单一无机氮化 合物能更好地促进植物生长,例如1:1铵硝态氮混合比单独添加任一种对泡核桃(*Juglans sigillata*)生长促进 作用更大<sup>[30]</sup>;尿素作为有机氮源比硝酸铵对多种植物类群(乔木、灌木、禾本科和杂类草等)净初级生产力具 有更大的促进作用<sup>[21]</sup>;而7:3比例尿素与甘氨酸组合相较它们单独添加更能促进野桃(*Amygdalu persica*)生 长<sup>[43]</sup>。截至目前,尚缺乏将大气氮沉降组分中主要无机和有机氮化合物及其比例组合对植物生长影响的实 验研究。

为了更广泛地探究不同氮化合物及其组合添加对植物生长的影响,本研究以对氮素添加效应较为敏 感<sup>[44]</sup>,且在草原生态系统常见的全球广布的一年生草本 C,植物苋科藜属灰绿藜(C. glaucum)作为研究对象。 基于温室盆栽实验,本研究设置了4种氮化合物(碳酸氢铵、硝酸钙、尿素和甘氨酸)及其所有等比例组合添 加与对照共16个实验处理,探究土壤化学特征、植物形态和光合生理性状对植物地上和地下生长的影响。我 们假设(1)由于铵态氮较其它氮素形态对杂类草的生长促进效应最大<sup>[21]</sup>,铵态氮含量可能是决定杂类草灰绿 藜生物量增加最主要的土壤因子;(2)由于有机氮通过铵化作用较缓慢地持续供给铵态氮<sup>[45-46]</sup>,有机氮组合 (即尿素+甘氨酸)添加对灰绿藜生物量的促进效应将最大。

#### 1 材料与方法

1.1 实验设计

盆栽实验于北京市中国科学院植物研究所实验温室进行。温室环境保持在室温 25℃,光周期 16/8 h(光照/黑暗)。灰绿藜种子及土壤于 2023 年 9 月采自中国科学院内蒙古草原生态系统定位研究站(内蒙古锡林 郭勒草原生态系统国家野外科学观测研究站)附近的天然草原(116°42′E,43°38′N)。土壤为栗钙土,其中 砂质占 88.21%,黏土占 0.30%,粉质占 11.49%<sup>[47]</sup>。植物群落以多年生草本植物羊草(*L. chinensis*)和大针茅 (*S. grandis*)为优势种,灰绿藜(*C. glaucum*)为常见种。土壤采集地从未开展过养分添加实验,该区域大气氮 沉降总体本底值在近半个世纪低于 0.5 g N m<sup>-2</sup> a<sup>-1[5]</sup>。

本研究设置了代表全球大气氮沉降中占比最主要 4 种氮组分的化合物碳酸氢铵(NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>)、和四水合 硝酸钙(Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O)、尿素(CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>)和甘氨酸(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>NO<sub>2</sub>)<sup>[9]</sup>,以及它们的所有等比例组合总共 15 个 氮添加处理和一个对照。每个处理的氮添加量 10 g N m<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>(该添加量作为国内外评估氮沉降对生态系统 效应的常用氮添加水平<sup>[21,48-49]</sup>),均分为 10 次,每次溶于 12 mL 纯净水中添加。对照组加等量纯净水。因此 总共 16 组实验处理,每种处理设置 3 个重复,共 48 盆。2023 年 12 月 3 日,将 2000 粒饱满的灰绿藜种子提前 于-20℃冰柜中冷冻 12 h 解休眠后,分散放入 10 个培养皿(长、宽 10 cm),并覆盖一层 1 mm 厚的实验土壤, 每个培养皿添加 10 mL 纯净水。4 天后挑选具两片子叶,茎长约 1.5 cm 长势良好的幼苗分别移栽入装有 3.5 kg土壤的 16 cm×16 cm 塑料花盆中央,每盆一株。移栽前向盆栽内加纯净水至 60%土壤田间持水量,后 续每 3 d 补充一次水分至 60% 田间持水量,每次约 100 mL。2023 年 12 月 29 日,植株具 12 片叶,平均茎长 3.25 cm,各处理间无显著差异,开始氮添加处理。每次处理当天称量氮化合物溶于纯净水,使用移液枪添加 氮化合物溶液总量 12 mL,然后立即补充纯净水至 60%土壤田间持水量。每 3 d 按照上述处理一次,并随机更 换盆栽摆放位置和清除盆内杂草,直至 10 次氮素添加完毕。氮添加总量达 10 g N m<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>后,每三天补充一次 水分至 60% 土壤田间持水量。

1.2 实验指标测定

#### 1.2.1 植物光合生理和形态性状

植物光合生理性状包括叶片叶绿素含量、光系统 II(PSII)实际光化学量子效率(Y(II))和 PSII 最大光化 学量子效率(F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>)。使用 SPAD—502 叶绿素仪(Konica Minolta, Japan)测定叶片叶绿素含量;光适应和暗 适应下叶绿素荧光诱导动力学曲线(OJIP 曲线)使用 FluorPen FP110 手持式叶绿素荧光仪(FluorCam, Czech Republic)测定叶片初始荧光(F<sub>o</sub>)、最大荧光(F<sub>m</sub>)、Y(II)和计算 F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>。

氮添加处理开始后每7天测定一次光合生理性状,2024年1月6日开始第一次测定。叶绿素含量共测定4次(首次未测因叶片宽度不足),叶绿素荧光参数测定5次。所有48株植株均测定2片茎上部完全展开叶片,每叶片测定2个不同位置,每株4个数据取平均值作为植株叶绿素含量测定结果;OJIP曲线测定2片茎上部完全展开叶片中间部,每株2个数据取平均值作为植株Y(II)和F,/F<sub>m</sub>测定结果。由于最后一次测定光合生理性状与多次测量平均值显著正相关且无显著统计差异,后续统计分析中光合生理性状采用多次测量平

均值。

形态性状测定包括茎粗和根长。2023年2月2日收获灰绿藜。使用游标卡尺于距离土表1 cm 测定基茎粗(cm)。使用直尺测定根长(mm)。

1.2.2 植物生物量

收获灰绿藜当天,地上和地下部分别装入信封 65℃烘干 48 h 至恒重,测定地上生物量和地下生物量。总 生物量=地上生物量+地下生物量;地上一地下生物量比例=地上生物量/地下生物量。

1.2.3 土壤指标

剪去灰绿藜地上部分后,立即将每盆土壤分别混匀后收集,一部分新鲜土壤(100g)用聚乙烯袋装封,立 即测定土壤含水量、铵态氮和硝态氮浓度;另一部分土壤(100g)风干后用于测定土壤 pH。约 30g 新鲜土壤 在 105℃下烘干 48 h 至恒重测定土壤含水量。采用 2 mol KCl 溶液 50 mL 提取 10.0g(10.00—10.09g)新鲜土 壤无机氮,震荡 1 h(150 r/min),无机氮浓度采用流动注射自动分析仪(AA3, Seal, Germany)测定。10.0g (10.00—10.05g)风干土加入纯净水(土:水=1:2.5),震荡 5 min,静置 15 min,采用 pH 计(Mettler Toledo, China)测量土壤 pH。

1.3 统计分析

首先,为探究氮添加(不区分氮化合物)对以上 13 个测定指标【地上生物量、地下生物量、总生物量、地 上一地下生物量比例、茎粗、根长、叶片叶绿素含量、Y(II)、F、/Fm、土壤铵态氮、硝态氮和无机氮含量、铵态氮 与硝态氮含量比例和 pH 值】的整体效应,本研究借用 meta 分析方法,使用对数转换后的响应比(ln*RR*)来 量化<sup>[50]</sup>:

#### $\ln RR = \ln(\bar{X}_t/\bar{X}_c)$

式中,*X*,和*X*。分别是所有氮化合物添加处理和对照处理对应变量的平均值。由于每个实验处理的重复数为 3,使用了 bootstrap 法计算 95%置信区间(CI;如果 95%置信区间与零值无重叠,则认为氮添加显著影响了该 测定指标,其中正值为促进效应,负值为抑制效应)。

其次,为揭示氮化合物及其组合添加对灰绿藜生物量、形态和光合生理性状及土壤化学特性的影响差异, 采用了单因素方差分析并多重比较(Duncan test)。再次,使用相关性分析('GGally'包)测定各指标之间的两 两相关关系。然后进行双向逐步回归分析('MASS'包 stepAIC 函数)。最后,为避免共线性,保留变量之间方 差膨胀因子(VIF)限制小于 10<sup>[46]</sup>;我们依据现有理论和已发表研究结果<sup>[51-52]</sup>,构建了氮添加通过改变土壤 化学特性,同时影响植物形态和光合生理性状,最终共同调控植物生物量及其分配的初始结构方程模型。我 们使用'piecewiseSEM'包逐步消除不显著路径并依据 Fisher's *C* 值确定了最终模型<sup>[53]</sup>。本研究中所有数据 分析与绘图均在 R 4.3.3 中进行。

#### 2 结果

#### 2.1 氮化合物及其组合添加对灰绿藜生物量的影响

氮添加(不区分氮化合物)整体上显著增加了灰绿藜地上生物量(图1;29.4%)、地下生物量(21.3%)和 总生物量(28.5%),没有改变地上一地下生物量比例(mean±95CIs:(13.4±13.6)%)。有机氮(尿素+甘氨酸) 添加比对照组和甘氨酸单独添加地上生物量增大了105.0%和111.1%(图2),而其它氮化合物及其组合添加 处理与对照无显著差别(P>0.05)。仅碳酸氢铵+硝酸钙+甘氨酸组合添加与对照相比地下生物量显著增大了 80.0%(图2)。灰绿藜总生物量同时受到地上(R<sup>2</sup>=0.99, P<0.001)和地下生物量(R<sup>2</sup>=0.73, P<0.001)共同 影响,其中地上部分影响更大。与地上生物量响应相似,仅有机氮(尿素+甘氨酸)添加时,总生物量最大,而 其它氮化合物及其组合添加处理与对照无显著差异。除有机氮添加处理外,碳酸氢铵+甘氨酸、碳酸氢铵+尿 素+甘氨酸组合添加也导致了地上—地下生物量比例显著增大,即更多干物质分配到地上部分。

2.2 氮化合物及其组合添加对灰绿藜形态与光合生理性状的影响

氮添加整体上显著增加了灰绿藜茎粗(图1;15.6%)和根长(8.8%)。碳酸氢铵+尿素+甘氨酸、碳酸氢





**Fig.1** Effects of N addition on biomass, morphological and photosynthetic physiological traits of *C. glaucum* and soil chemical properties ln*RR*:对数转换后的响应比 log-transformed response ratio; SPAD:叶片叶绿素含量 Leaf chlorophyll content; Y(II):PSII 实际光化学量子效率 Actual photochemical efficiency of PSII; F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>:PSII 最大光化学量子效率 Maximal photochemical efficiency of PSII. 效应值=(平均值±95%置信 区间); 观测值个数 N=15; \*表示 P<0.05; \*\*表示 P<0.01; \*\*\*表示 P<0.001



图 2 氮化合物及其组合添加对灰绿藜地上和地下生物量的影响

Fig.2 Effects of inputs of N forms and their combination on above—ground biomass and below—ground biomass of *C. glaucum* 小写字母表示处理之间地上生物量的显著差异,大写字母表示处理之间地下生物量的显著差异;误差棒表示标准误;铵表示碳酸氢铵;硝表示硝酸钙;尿表示尿素;甘表示甘氨酸

铵+硝酸钙+甘氨酸、碳酸氢铵+硝酸钙+尿素+甘氨酸、有机氮(尿素+甘氨酸)和无机氮(碳酸氢铵+硝酸钙)共5种氮化合物添加下茎粗显著增大了33.3%、30.6%、25.0%、25.0%和22.2%(图3; *F*<sub>15/32</sub>=3.21, *P*<0.05)。与对照相比,不同氮化合物添加未显著改变根长(*F*<sub>15/32</sub>=1.01, *P*=0.47)。

氮添加整体上没有显著改变灰绿藜的光合生理性状(图1):SAPD (mean±95CIs: (1.7±1.7)%)、Y(II) (mean±95CIs: (-0.1±0.9)%)和 F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>(mean±95CIs: (0.0±0.6)%)。氮化合物添加没有显著改变叶片叶绿

素含量(F<sub>15/32</sub>=0.98, P=0.49)以及 F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>(图 4; F<sub>15/32</sub>=1.72, P=0.10),但影响了 Y(II),甘氨酸单独添加比 对照 Y(II)显著减小了 2.4%(图 5; F<sub>15/32</sub>=3.83, P<0.001)。



图 3 氮化合物及其组合添加对灰绿藜茎粗的影响 Fig.3 Effects of inputs of N forms and their combination on stem diameter of C. glaucum



图 4 氮化合物及其组合添加对灰绿藜叶片 PSII 最大光化学量子效率 $(F_v/F_m)$ 的影响



#### 2.3 氮化合物及其组合添加对土壤化学特性的影响

氮添加显著降低了土壤 pH(图 1; -57.1%;  $F_{15/32}$ =12.91, P<0.001),增加了无机氮含量(图 1; 196.1%;  $F_{15/32}$ =46.95, P<0.001),没有显著改变土壤铵态氮与硝态氮含量比例(mean±95CIs:(38.5±95.7)%)。土壤无机氮含量主要受到硝态氮的影响( $R^2$ =0.92)。碳酸氢铵+甘氨酸、碳酸氢铵、碳酸氢铵+尿素+甘氨酸、碳酸氢铵+尿素和甘氨酸共 5 种添加下土壤铵态氮与硝态氮含量比例分别显著增大 398.5%、301.9%、218.3%、210.8%和 162.9%( $F_{15/32}$ =11.29, P<0.001)。



图 5 氮化合物及其组合添加对灰绿藜 PSII 实际光化学量子效率(Y(II))的影响 Fig.5 Effects of inputs of N forms and their combination on actual photochemical efficiency of PSII(Y(II)) of C. glaucum

氮添加整体上显著增加了土壤铵态氮(图1;235.5%)和硝态氮含量(183.1%)。除硝酸钙处理外,14种 氮添加处理比对照土壤铵态氮均显著增加(图6;F<sub>15/32</sub>=7.68,P<0.001),其中碳酸氢铵+甘氨酸组合添加影 响最显著。所有氮化合物添加处理比对照处理土壤硝态氮含量均显著增加(F<sub>15/32</sub>=51.42,P<0.001),其中硝 酸钙添加的影响最显著。



图 6 氮化合物及其组合添加对土壤铵态氮含量的影响 Fig.6 Effects of inputs of N forms and their combination on soil NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N concentrations

#### 2.4 氮化合物及其组合添加影响灰绿藜生物量的机制

逐步回归分析结果显示(表1)茎粗、叶绿素含量和 $F_v/F_m$ 共同解释了灰绿藜地上生物量和总生物量变化的 65.70% ( $R^2$ =0.66, P<0.001)和 65.94% ( $R^2$ =0.66, P<0.001);茎粗、叶绿素含量、 $F_v/F_m$ 和土壤铵态氮含量共同解释了地下生物量变化的 65.26% ( $R^2$ =0.65, P<0.001);土壤铵态氮和硝态氮比例解释了地上—地下

#### 生物量比例变化的 32.01% (R<sup>2</sup>=0.32, P<0.001)。

Table 1 Stepped-regression results of C. glaucum biomass				
回归方程 Regression equation	$R^2$	df	F	Р
地上生物量=8.32 SD-5.35 F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub> +0.06 SPAD+0.97	0.6570	3,44	28.09	< 0.001
地下生物量=0.94 SD-0.64 $F_v/F_m$ +0.01 SPAD-0.01 $NH_4^+$ -N+0.24	0.6526	4,43	20.19	< 0.001
总生物量=9.07 SD-5.89 $F_v/F_m$ +0.06 SPAD+1.21	0.6594	3,44	28.40	< 0.001
地上—地下生物量比例=5.20 NH <sub>4</sub> -N/NO <sub>3</sub> -N+8.51	0.3201	1,46	21.66	< 0.001

表1 灰绿藜生物量的逐步回归结果

SD:茎粗 Stem diameter; F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>: PSII 最大光化学量子效率 Maximal photochemical efficiency of PSII; SPAD:叶片叶绿素含量 Leaf chlorophyll content; NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N:土壤铵态氮含量 Soil ammonium nitrogen content; NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N:土壤铵态氮与硝态氮含量比例 Ratio of soil ammonium-nitrate nitrogen content

灰绿藜地上和地下生物量显著正相关(图7)。氮化合物及其组合通过直接提高土壤铵态氮含量,进而增加茎粗和叶片光合能力,共同促进植物地上生物量积累和总生物量的提升(Fisher's *C*=19.195, *P*=0.964, *df*=32, AIC=-577.700)。因此土壤铵态氮含量对地上生物量(标准化路径系数=0.37)和总生物量(标准化路径系数=0.37)具有正效应。虽然土壤铵态氮增加了茎粗从而间接增加地下生物量(标准化路径系数=0.25),但是土壤铵态氮对地下生物量具有直接的负效应(标准化路径系数=-0.38),它们最终共同导致土壤铵态氮对地下生物量的负效应(Fisher's *C*=12.893, *P*=0.882, *df*=20, AIC=-1052.114;标准化路径系数=-0.13)。与逐步回归分析结果相似,仅土壤铵态氮与硝态氮含量比例直接增加了灰绿藜的地上—地下生物量比例(标准化路径系数=0.57)。

#### 3 讨论

目前为止,在探究大气氮沉降输入对植物(个体和群落)生长影响的研究中,本研究是涉及氮沉降组分 (无机氮:铵态氮和硝态氮,有机氮:尿素和甘氨酸)最全面的一个实验研究。通过添加代表现阶段和未来大 气氮沉降中四种主要组分的氮化合物(铵态氮、硝态氮、尿素和甘氨酸)及其等比例组合,发现(1)和第一个假 设一致,氮输入导致的土壤铵态氮含量增加,是决定灰绿藜生物量增加的最主要因素。结构方程模型结果表 明土壤铵态氮促进灰绿藜地上部分生长,但是由于铵离子的毒害效应,对其根系生长具有抑制作用。总体上 土壤铵态氮促进植株生长。同时还发现(2)和第二个假设一致,有机氮(尿素+甘氨酸)组合添加时,植物生物 量增加最多,表明在模拟大气氮沉降的控制实验研究中,如果不考虑有机氮组分,很有可能会低估氮沉降对植 物生长的正效应。

3.1 氮化合物及其组合对灰绿藜生长的影响

氮添加整体上促进灰绿藜地上生物量、地下生物量以及总生物量累积。这与已报道的大部分研究结果一致<sup>[20,54-55]</sup>,可能与草原生态系统土壤生物有效氮匮乏有关<sup>[56-57]</sup>。温带典型草原生态系统中灰绿藜地上净生产力或相对生物量在氮添加处理后均显著增加<sup>[23-25]</sup>。氮添加缓解了氮素对灰绿藜生长的限制,在一定阈值内灰绿藜生物量随着氮添加量的增大而增加。

我们发现不同氮化合物对灰绿藜生长的影响有差异,其中有机氮(尿素+甘氨酸)组合添加对灰绿藜地上 生物量和总生物量的促进作用最大,而无机氮和甘氨酸组合添加对灰绿藜地下生物量增加效应最突出。目前 很少研究比较不同氮化合物单独或组合添加对植物生长的影响。在半干旱草原生态系统中添加不同比例的 无机氮(NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>)与有机氮(尿素和甘氨酸等量混合)及其组合,对一年生植物黄花蒿(Artemisia annua)地上 生物量的影响没有显著差异<sup>[19]</sup>。然而在盆栽实验中,无机氮((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)和有机氮(氨基酸态氮)组合添加 相比仅添加无机氮,苋科甜菜属甜菜(Beta vulgaris)的地上和地下生物量均显著增加<sup>[58]</sup>;一些农田生态系统 研究发现尿素或者尿素与无机氮组合添加相较无机氮更能显著提高作物产量与品质<sup>[59-60]</sup>。群落中由于植物 种间竞争激烈,对于一年生植物而言,其它资源(如水分、光照等)对其生长的限制可能超过了氮形态的影响,



图 7 氮化合物及其组合添加对灰绿藜地上、地下生物量影响途径的结构方程模型

Fig.7 The structural equation model for the influence of effects of inputs of N forms and their combination on AGB and BGB of *C. glaucum* 

NH<sup>4</sup><sub>4</sub>-N:土壤铵态氮含量 Soil ammonium nitrogen content; NO<sup>5</sup><sub>3</sub>-N:土壤硝态氮含量 Soil nitrate nitrogen content; NH<sup>4</sup><sub>4</sub>-N/NO<sup>5</sup><sub>3</sub>-N:土壤铵态氮与硝 态氮含量比例 Ratio of soil ammonium—nitrate nitrogen content; 黑色和灰色箭头分别表示正效应和负效应,箭头上的数字为标准化路径系数,箭头的宽度与路径系数强度成正比。 $R^2$ 表示所有预测因子解释的方差比例;地上生物量与地下生物量线性回归拟合图中灰色阴影部分表示 95%置信区间

导致不同氮化合物处理下地上生物量和总生物量的响应相似<sup>[23]</sup>。本研究结果与盆栽或农田实验结果相同,即不存在剧烈的种间竞争时,混合添加有机氮比单一无机氮添加更能促进植物的生长。

3.2 氮化合物及其组合对灰绿藜生长的影响机制

土壤铵态氮通过增加茎粗和提升叶片光合能力最终增大了灰绿藜的总生物量,然而土壤铵态氮对灰绿藜 根系生长具有负效应。首先,我们发现氮添加整体上增加了土壤铵态氮含量和灰绿藜茎粗,但并没有改变叶 片光合性状特征。植物主要从土壤中吸收无机氮,土壤无机氮含量在很大程度上影响植物生长<sup>[61]</sup>。一般而 言,植物氮吸收率与土壤无机氮含量渐进正相关<sup>[62]</sup>,并且能够提高水分利用效率<sup>[63]</sup>,从而增大植株茎粗与根 长<sup>[45]</sup>,这与本研究结果一致。光合生理性状方面,叶片氮浓度是驱动植物光合作用最普遍的因素之一<sup>[64]</sup>。 目前研究已经证明氮添加能够增加叶片氮浓度<sup>[55]</sup>,多数研究表明适量的氮添加增加叶片叶绿素含量<sup>[65]</sup>,增 大叶绿素荧光参数等<sup>[29]</sup>,提高了植物光合能力,从而增大植物的生物量<sup>[28]</sup>。然而,较高的氮输入率可能超过 植物的光合需求<sup>[66-67]</sup>,植物光合生理性状对氮添加的响应相比生物量更加敏感<sup>[68]</sup>,这意味着光合性状氮饱 和阈值相比生物量氮饱和阈值可能更低,在氮添加量相对更低时光合性状可能已经出现负效应。即使植物光 合作用对叶片氮具有强烈依赖性,较高速率或持续的氮输入也仅会在较小程度上增加叶片光合能力<sup>[52]</sup>。 我们还发现不同氮化合物及其组合处理对土壤铵态氮、灰绿藜茎粗,以及除叶片叶绿素含量的另外两个 光合性状特征(F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>和Y(II))存在不完全一致的响应。土壤无机氮含量及其比例的变化是多个氮转化过程 响应的结果<sup>[69]</sup>,不同氮化合物添加对土壤无机氮的影响不相同,且并不一定会导致土壤相应的变化。尿素和 甘氨酸通过微生物氨化作用提高土壤铵态氮含量<sup>[46,70]</sup>,部分铵态氮通过硝化作用转化为硝态氮,而反硝化作 用导致部分硝态氮损失<sup>[71]</sup>。全球陆地生态系统的荟萃分析表明铵态氮添加反而通过增强硝化作用提高了土 壤硝态氮含量<sup>[21]</sup>。野桃(*A. persica*)盆栽实验结果发现尿素添加相比甘氨酸或者有机氮组合添加对土壤铵态 氮的促进作用更高<sup>[45]</sup>。在陆地生态系统中,添加硝酸铵相比碳酸氢铵、尿素、有机氮组合或者无机氮与有机 氮组合添加土壤铵态氮含量均显著提高<sup>[19,21,68]</sup>。矿化作用可能是影响土壤铵态氮含量的最主要驱动因 子<sup>[72]</sup>。有机氮或铵态氮添加将促进土壤铵态氮含量的提高;铵态氮有效性决定了它转化成硝态氮而损失的 速率<sup>[73]</sup>,较高的硝态氮含量能够抑制这一过程,因此高硝态氮含量或低铵态氮与硝态氮比例能够提高土壤铵 态氮含量。不同氮化合物及其组合添加下,土壤铵态氮含量由氨化作用与硝化作用的平衡而决定。

理论上植物茎粗与土壤氮素吸收率的增加有关。目前研究表明铵态氮较硝态氮更能促进杂类草植物生 长<sup>[21]</sup>。当氮素是植物生长的限制性养分且两种无机氮形态共存时,铵态氮往往更容易被大多数植物吸 收<sup>[74]</sup>。因为铵态氮以被动吸收为主,相较硝态氮的吸收和同化更节约能量<sup>[75-76]</sup>。例如,在草甸草原上进行 不同氮化合物的同位素添加,3种优势种物种叶片δ<sup>15</sup>N值在 NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>和尿素添加下显著高于 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>处理 组<sup>[68]</sup>。此外,也有研究表明硝态氮比铵态氮更能促进植物地上部分生长,因为硝态氮通常运输到叶片进行同 化,而铵态氮主要在根系同化<sup>[77]</sup>。对于有机氮,大部分尿素和甘氨酸经过微生物作用为植物提供了更缓慢和 稳定供给的氮源<sup>[45]</sup>,植物生长在养分供应速率与幼苗生长需求匹配时响应最大<sup>[78]</sup>,例如精氨酸比 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>更 能促进欧洲赤松(*Pinus sylvestris*)幼苗的营养吸收和生长<sup>[45]</sup>。同时,植物还能直接吸收尿素或者甘氨酸<sup>[40,79]</sup>。 甘氨酸通过增加土壤碳氮比<sup>[80]</sup>,降低反硝化速率<sup>[43]</sup>,促进植物对其它养分的吸收;并且能在植物体内提高根 系谷氨酰胺合成酶(GS)/谷氨酸合成酶(GOGAT)循环和谷氨酸脱氢酶(GDH)活性,促进 NH<sub>4</sub>的同化,提高氮 利用效率<sup>[43]</sup>,还能够缓解可能发生的铵毒作用<sup>[81]</sup>。单一铵态氮或者高铵态氮与硝态氮比例的氮添加会抑制 植物生长<sup>[34,75,82]</sup>,尤其是根系,表现为根系生长和发育迟缓、地上一地下生物量比例减少等<sup>[77]</sup>。因此,有机氮 添加时通过矿化作用逐渐转化为植物更能直接吸收利用的铵态氮,可避免铵离子毒害以及硝态氮淋溶和反硝 化作用导致的氮损失而更有效地促进植物生长。

本研究结果局限于在温室内一年生植物物种的盆栽实验,与野外原位实验相比不具备复杂的种内和种间 竞争。同时,盆栽实验周期为两个月,比野外实际生长季持续时间短,总体上本研究在相对较短的周期内添加 了较高的氮总量。在草原生态系统植物群落中是否具有类似现象还有待未来野外原位实验予以检验。

#### 4 结论

氮沉降对植物生长的影响是全球变化生态学研究的热点之一,而以往研究较少关注氮沉降组分变化带来的生态效应。本研究首次通过添加现在及将来氮沉降中总含量超 90%的四种组分氮化合物,即两种无机氮(铵态氮和硝态氮)和两种有机氮(尿素和甘氨酸),探究了四种氮化合物单独及其所有等比例组合对全球广布一年生草本 C<sub>3</sub>植物灰绿藜的生长影响及潜在机制。本研究发现氮添加确实增加了灰绿藜生物量,但是不同氮化合物对其影响有差异,其中有机氮组合(尿素+甘氨酸)的促进作用最显著。同时还发现不同氮化合物引起的土壤铵态氮含量增加是影响灰绿藜生物量累积的决定性因子。这些研究结果表明氮沉降组分的改变可能将影响群落中植物的生长,以往研究中仅通过无机氮添加来模拟的大气氮沉降控制实验可能低估了它对植物生长的促进作用。因此,在未来探究大气氮沉降的生态效应实验和模型的研究应考虑氮化合物及其组合以更准确评估氮沉降对生态系统的影响。

致谢:感谢中国科学院植物研究所田利金研究员、刘佃奇在盆栽实验方案设计及数据测定过程中给予的指导

### 与帮助,感谢中国科学院植物研究所王小亮、陈旭、张日谦、刘丽娟和卢炜煜在实验过程及数据分析中给予的 支持和帮助!

#### 参考文献(References):

- [1] Liu L, Xu W, Lu X K, Zhong B Q, Guo Y X, Lu X, Zhao Y H, He W, Wang S H, Zhang X Y, Liu X J, Vitousek P. Exploring global changes in agricultural ammonia emissions and their contribution to nitrogen deposition since 1980. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2022, 119(14): e2121998119.
- [2] Ianniello A, Spataro F, Esposito G, Allegrini I, Hu M, Zhu T. Chemical characteristics of inorganic ammonium salts in PM<sub>2.5</sub> in the atmosphere of Beijing (China). Atmospheric Chemistry and Physics, 2011, 11(21): 10803-10822.
- [3] Galloway J N, Dentener F J, Capone D G, Boyer E W, Howarth R W, Seitzinger S P, Asner G P, Cleveland C C, Green P A, Holland E A, Karl D M, Michaels A F, Porter J H, Townsend A R, Vöosmarty C J. Nitrogen cycles: past, present, and future. Biogeochemistry, 2004, 70(2): 153-226.
- [4] Neff J C, Holland E A, Dentener F J, McDowell W H, Russell K M. The origin, composition and rates of organic nitrogen deposition: a missing piece of the nitrogen cycle? Biogeochemistry, 2002, 57(1): 99-136.
- [5] Yu G R, Jia Y L, He N P, Zhu J X, Chen Z, Wang Q F, Piao S L, Liu X J, He H L, Guo X B, Wen Z, Li P, Ding G A, Goulding K. Stabilization of atmospheric nitrogen deposition in China over the past decade. Nature Geoscience, 2019, 12(6): 424-429.
- [6] Galloway J N, Townsend A R, Erisman J W, Bekunda M, Cai Z C, Freney J R, Martinelli L A, Seitzinger S P, Sutton M A. Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions. Science, 2008, 320(5878): 889-892.
- [7] Lu C Q, Tian H Q. Half-century nitrogen deposition increase across China: a gridded time-series data set for regional environmental assessments. Atmospheric Environment, 2014, 97: 68-74.
- [8] Kanakidou M, Myriokefalitakis S, Daskalakis N, Fanourgakis G, Nenes A, Baker A R, Tsigaridis K, Mihalopoulos N. Past, present and future atmospheric nitrogen deposition. Journal of the Atmospheric Sciences, 2016, 73(5): 2039-2047.
- [9] Cornell S E. Atmospheric nitrogen deposition: revisiting the question of the importance of the organic component. Environmental Pollution, 2011, 159(10): 2214-2222.
- [10] Gilliam F S, Burns D A, Driscoll C T, Frey S D, Lovett G M, Watmough S A. Decreased atmospheric nitrogen deposition in eastern North America: predicted responses of forest ecosystems. Environmental Pollution, 2019, 244(11): 560-574.
- [11] Tan J N, Fu J S, Dentener F, Sun J, Emmons L, Tilmes S, Sudo K, Flemming J, Jonson J E, Gravel S, Bian H S, Davila Y, Henze D K, Lund M T, Kucsera T, Takemura T, Keating T. Multi-model study of HTAP II on sulfur and nitrogen deposition. Atmospheric Chemistry and Physics, 2018, 18(9): 6847-6866.
- [12] Gaudinier A, Rodriguez-Medina J, Zhang L F, Olson A, Liseron-Monfils C, Bågman A M, Foret J, Abbitt S, Tang M, Li B H, Runcie D E, Kliebenstein D J, Shen B, Frank M J, Ware D, Brady S M. Transcriptional regulation of nitrogen-associated metabolism and growth. Nature, 2018, 563(7730): 259-264.
- [13] Yang H, Li Y F, Cao Y W, Shi W Q, Xie E, Mu N, Du G J, Shen Y, Tang D, Cheng Z K. Nitrogen nutrition contributes to plant fertility by affecting meiosis initiation. Nature Communications, 2022, 13(1): 485.
- [14] Hu C C, Liu X Y, Driscoll A W, Kuang Y W, Jack Brookshire E N, Lü X T, Chen C J, Song W, Mao R, Liu C Q, Houlton B Z. Global distribution and drivers of relative contributions among soil nitrogen sources to terrestrial plants. Nature Communications, 2024, 15(1): 6407.
- [15] Luo L, Zhao C Z, Zheng D H, Wang E T, Liang J, Yin C Y. Nitrogen uptake preference and allocation in *Populus cathayana* in response to drought stress. Environmental and Experimental Botany, 2023, 213(11): 105415.
- [16] Zhu F F, Dai L M, Hobbie E A, Qu Y Y, Huang D, Gurmesa G A, Zhou X L, Wang A, Li Y H, Fang Y T. Quantifying nitrogen uptake and translocation for mature trees: an *in situ* whole-tree paired <sup>15</sup>N labeling method. Tree Physiology, 2021, 41(11): 2109-2125.
- [17] Ren Z R, Zhang Y Q, Zhang Y H. Nitrogen deposition magnifies the positive response of plant community production to precipitation: ammonium to nitrate ratio matters. Environmental Pollution, 2021, 276: 116659.
- [18] Cai J P, Weiner J, Luo W T, Feng X, Yang G J, Lu J Y, Lü X T, Li M H, Jiang Y, Han X G. Functional structure mediates the responses of productivity to addition of three nitrogen compounds in a meadow steppe. Oecologia, 2023, 201(2): 575-584.
- [19] Wang Z, Tao T T, Wang H, Chen J, Small G E, Johnson D, Chen J H, Zhang Y J, Zhu Q C, Zhang S M, Song Y T, Kattge J, Guo P, Sun X. Forms of nitrogen inputs regulate the intensity of soil acidification. Global Change Biology, 2023, 29(14): 4044-4055.
- [20] Lu M, Yang Y H, Luo Y Q, Fang C M, Zhou X H, Chen J K, Yang X, Li B. Responses of ecosystem nitrogen cycle to nitrogen addition: a metaanalysis. New Phytologist, 2011, 189(4): 1040-1050.

11

- [21] Yan L M, Xu X N, Xia J Y. Different impacts of external ammonium and nitrate addition on plant growth in terrestrial ecosystems: a meta-analysis. Science of the Total Environment, 2019, 686(1): 1010-1018.
- [22] Liu R X, Chen J G, Ren Z R, Chen X, Lu H N, Zhang Y Q, Zhang Y H. Leaf traits of clonal grasses responding to the ratios of ammonium to nitrate in a semi-arid grassland: leaf order matters. Journal of Plant Ecology, 2023, 16(4): rtac108.
- [23] Zhang Y H, Feng J C, Isbell F, Lü X T, Han X G. Productivity depends more on the rate than the frequency of N addition in a temperate grassland. Scientific Reports, 2015, 5(1): 12558.
- [24] Zhang J H, Ren T T, Yang J J, Xu L, Li M X, Zhang Y H, Han X G, He N P. Leaf multi-element network reveals the change of species dominance under nitrogen deposition. Frontiers in Plant Science, 2021, 12: 580340.
- [25] Lü X T, Hou S L, Reed S, Yin J X, Hu Y Y, Wei H W, Zhang Z W, Yang G J, Liu Z Y, Han X G. Nitrogen enrichment reduces nitrogen and phosphorus resorption through changes to species resorption and plant community composition. Ecosystems, 2021, 24(3): 602-612.
- [26] Pan Q M, Bai Y F, Wu J G, Han X G. Hierarchical plant responses and diversity loss after nitrogen addition: testing three functionally-based hypotheses in the Inner Mongolia grassland. PLoS One, 2011, 6(5): e20078.
- [27] 张云海,何念鹏,张光明,黄建辉,韩兴国. 氮沉降强度和频率对羊草叶绿素含量的影响. 生态学报, 2013, 33(21): 6786-6794.
- [28] Mason Heberling J, Fridley J D. Invaders do not require high resource levels to maintain physiological advantages in a temperate deciduous forest. Ecology, 2016, 97(4): 874-884.
- [29] 杜英东,袁相洋,冯兆忠.不同形态氮对杨树光合特性及生长的影响.植物生态学报,2023,47(3):348-360.
- [30] 张秦泽,郝广,李洪远.外源输入氮的有效性及形态对植物生长与生理影响的研究进展.生态学杂志, 2024, 43(3):878-887.
- [31] Li W B, Zhang H X, Huang G Z, Liu R X, Wu H J, Zhao C Y, McDowell N G. Effects of nitrogen enrichment on tree carbon allocation: a global synthesis. Global Ecology and Biogeography, 2020, 29(3): 573-589.
- [32] 刘永万,白炜,尹鹏松,冯月,张景然.外源氮素添加对长江源区高寒沼泽草甸土壤养分及植物群落生物量的影响.草地学报,2020,28 (2):483-491.
- [33] Bobbink R, Hicks K, Galloway J, Spranger T, Alkemade R, Ashmore M, Bustamante M, Cinderby S, Davidson E, Dentener F, Emmett B, Erisman J W, Fenn M, Gilliam F, Nordin A, Pardo L, De Vries W. Global assessment of nitrogen deposition effects on terrestrial plant diversity: a synthesis. Ecological Applications, 2010, 20(1): 30-59.
- [34] Hachiya T, Inaba J, Wakazaki M, Sato M, Toyooka K, Miyagi A, Kawai-Yamada M, Sugiura D, Nakagawa T, Kiba T, Gojon A, Sakakibara H. Excessive ammonium assimilation by plastidic glutamine synthetase causes ammonium toxicity in *Arabidopsis thaliana*. Nature Communications, 2021, 12(1): 4944.
- [35] Wang R Z, Zhang Y H, He P, Yin J F, Yang J J, Liu H Y, Cai J P, Shi Z, Feng X, Dijkstra F A, Han X G, Jiang Y. Intensity and frequency of nitrogen addition alter soil chemical properties depending on mowing management in a temperate steppe. Journal of Environmental Management, 2018, 224: 77-86.
- [36] Xu G H, Fan X R, Miller A J. Plant nitrogen assimilation and use efficiency. Annual Review of Plant Biology, 2012, 63: 153-182.
- [37] Näsholm T, Kielland K, Ganeteg U. Uptake of organic nitrogen by plants. New Phytologist, 2009, 182(1): 31-48.
- [38] Harrison K A, Bol R, Bardgett R D. Preferences for different nitrogen forms by coexisting plant species and soil microbes. Ecology, 2007, 88(4): 989-999.
- [39] Streeter T C, Bol R, Bardgett R D. Amino acids as a nitrogen source in temperate upland grasslands: the use of dual labelled (<sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N) *Glycine* to test for direct uptake by dominant grasses. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2000, 14(15): 1351-1355.
- [40] Witte C P. Urea metabolism in plants. Plant Science, 2011, 180(3): 431-438.
- [41] Sheppard L J, Leith I D, Mizunuma T, Leeson S, Kivimaki S, Neil Cape J, van Dijk N, Leaver D, Sutton M A, Fowler D, Van den Berg L J L, Crossley A, Field C, Smart S. Inertia in an ombrotrophic bog ecosystem in response to 9 years' realistic perturbation by wet deposition of nitrogen, separated by form. Global Change Biology, 2014, 20(2): 566-580.
- [42] McKane R B, Johnson L C, Shaver G R, Nadelhoffer K J, Rastetter E B, Fry B, Giblin A E, Kielland K, Kwiatkowski B L, Laundre J A, Murray G. Resource-based niches provide a basis for plant species diversity and dominance in Arctic tundra. Nature, 2002, 415(6867): 68-71.
- [43] Li Y Y, Lv Y, Peng F T, Xiao Y S. Effect of *Glycine* combined with urea on the absorption, transportation and transformation of nitrogen in wild peach seedlings (*Amygdalu spersica* (L.) Batsch). Scientia Horticulturae, 2023, 308: 111549.
- [44] Yang T, Long M, Smith M D, Gu Q, Yang Y D, He N P, Xu C, Wu H H, Vilonen L, Zhao J L, Jentsch A, Yu Q. Changes in species abundances with short-term and long-term nitrogen addition are mediated by stoichiometric homeostasis. Plant and Soil, 2021, 469(1): 39-48.
- [45] Lim H, Jämtgård S, Oren R, Gruffman L, Kunz S, Näsholm T. Organic nitrogen enhances nitrogen nutrition and early growth of *Pinus sylvestris* seedlings. Tree Physiology, 2022, 42(3): 513-522.
- [46] Kaur B, Kaur G, Asthir B. Biochemical aspects of nitrogen use efficiency: an overview. Journal of Plant Nutrition, 2017, 40(4): 506-523.

- [47] Jia Z, Li P, Wu Y T, Yang S, Wang C Z, Wang B, Yang L, Wang X, Li J, Peng Z Y, Guo L L, Liu W X, Liu L L. Deepened snow cover alters biotic and abiotic controls on nitrogen loss during non-growing season in temperate grasslands. Biology and Fertility of Soils, 2021, 57(2): 165-177.
- [48] Borer E T, Seabloom E W, Gruner D S, Stanley Harpole W, Hillebrand H, Lind E M, Adler P B, Alberti J, Michael Anderson T, Bakker J D, Biederman L, Blumenthal D, Brown C S, Brudvig L A, Buckley Y M, Cadotte M, Chu C J, Cleland E E, Crawley M J, Daleo P, Damschen E I, Davies K F, DeCrappeo N M, Du G Z, Firn J, Hautier Y, Heckman R W, Hector A, HilleRisLambers J, Iribarne O, Klein J A, Knops J M H, La Pierre K J, Leakey A D B, Li W, MacDougall A S, McCulley R L, Melbourne B A, Mitchell C E, Moore J L, Mortensen B, O'Halloran L R, Orrock J L, Pascual J, Prober S M, Pyke D A, Risch A C, Schuetz M, Smith M D, Stevens C J, Sullivan L L, Williams R J, Wragg P D, Wright J P, Yang L H. Herbivores and nutrients control grassland plant diversity *via* light limitation. Nature, 2014, 508(7497); 517-520.
- [49] Lekberg Y, Arnillas C A, Borer E T, Bullington L S, Fierer N, Kennedy P G, Leff J W, Luis A D, Seabloom E W, Henning J A. Nitrogen and phosphorus fertilization consistently favor pathogenic over mutualistic fungi in grassland soils. Nature Communications, 2021, 12(1): 3484.
- [50] Hedges L V, Gurevitch J, Curtis P S. The meta-analysis of response ratios in experimental ecology. Ecology, 1999, 80(4): 1150.
- [51] De Castro-Català N, Dolédec S, Kalogianni E, Skoulikidis N T, Paunovic M, Vasiljević B, Sabater S, Tornés E, Muñoz I. Unravelling the effects of multiple stressors on diatom and macroinvertebrate communities in European river basins using structural and functional approaches. Science of the Total Environment, 2020, 742: 140543.
- [52] Liang X Y, Zhang T, Lu X K, Ellsworth D S, BassiriRad H, You C M, Wang D, He P C, Deng Q, Liu H, Mo J M, Ye Q. Global response patterns of plant photosynthesis to nitrogen addition: a meta-analysis. Global Change Biology, 2020, 26(6): 3585-3600.
- [53] Shipley B. A new inferential test for path models based on directed acyclic graphs. Structural Equation Modeling: A Multidisciplinary Journal, 2000, 7(2): 206-218.
- [54] Yue K, Fornara D A, Li W, Ni X Y, Peng Y, Liao S, Tan S Y, Wang D Y, Wu F Z, Yang Y S. Nitrogen addition affects plant biomass allocation but not allometric relationships among different organs across the globe. Journal of Plant Ecology, 2021, 14(3): 361-371.
- [55] Xia J Y, Wan S Q. Global response patterns of terrestrial plant species to nitrogen addition. New Phytologist, 2008, 179(2): 428-439.
- [56] Du E Z, Terrer C, Pellegrini A F A, Ahlström A, van Lissa C J, Zhao X, Xia N, Wu X H, Jackson R B. Global patterns of terrestrial nitrogen and phosphorus limitation. Nature Geoscience, 2020, 13(3): 221-226.
- [57] LeBauer D S, Treseder K K. Nitrogen limitation of net primary productivity in terrestrial ecosystems is globally distributed. Ecology, 2008, 89(2): 371-379.
- [58] 胡晓航,周建朝,陈立新,王秋红. 铵态氮和氨基酸态氮配施对甜菜生长特性及碳代谢的影响. 植物研究, 2015, 35(3): 370-377.
- [59] Golterman H L, Bruijn P, Schouffoer J G M, Dumoulin E. Urea fertilization and the N-cycle of rice-fields in the Camargue (S. France). Hydrobiologia, 1998, 384(1): 7-20.
- [60] Cui H X, Luo Y L, Li C H, Chang Y L, Jin M, Li Y, Wang Z L. Effects of nitrogen forms on nitrogen utilization, yield, and quality of two wheat varieties with different gluten characteristics. European Journal of Agronomy, 2023, 149(6): 126919.
- [61] Yan P, Zhang J H, He N P, Zhang W K, Liu C C, Fernández-Martínez M. Functional diversity and soil nutrients regulate the interannual variability in gross primary productivity. Journal of Ecology, 2023, 111(5): 1094-1106.
- [62] Niu S L, Classen A T, Dukes J S, Kardol P, Liu L L, Luo Y Q, Rustad L, Sun J, Tang J W, Templer P H, Quinn Thomas R, Tian D S, Vicca S, Wang Y P, Xia J Y, Zaehle S. Global patterns and substrate-based mechanisms of the terrestrial nitrogen cycle. Ecology Letters, 2016, 19(6): 697-709.
- [63] Carbone M S, Trumbore S E. Contribution of new photosynthetic assimilates to respiration by perennial grasses and shrubs: residence times and allocation patterns. New Phytologist, 2007, 176(1): 124-135.
- [64] Nijs I, Behaeghe T, Impens I. Leaf nitrogen content as a predictor of photosynthetic capacity in ambient and global change conditions. Journal of Biogeography, 1995, 22(2/3): 177.
- [65] 王晓燕,陈俊刚,张云海,毕华兴.不同频率氮添加对内蒙古典型草原植物叶绿素的影响.生态学报,2024,44(11):4854-4864.
- [66] Aber J, McDowell W, Nadelhoffer K, Magill A, Berntson G, Kamakea M, McNulty S, Currie W, Rustad L, Fernandez I. Nitrogen saturation in temperate forest ecosystems: hypotheses revisited. BioScience, 1998, 48(11): 921-934.
- [67] 门璐,何奕成,李婷婷,黎鹏宇,胡健,周青平.高寒草甸植物叶绿素对氮添加梯度的非线性响应.草地学报,2023,31(6):1622-1631.
- [68] Wang Y L, Niu G X, Wang R Z, Rousk K, Li A, Hasi M, Wang C H, Xue J G, Yang G J, Lü X T, Jiang Y, Han X G, Huang J H. Enhanced foliar <sup>15</sup>N enrichment with increasing nitrogen addition rates: role of plant species and nitrogen compounds. Global Change Biology, 2023, 29(6): 1591-1605.
- [69] Bai T S, Wang P, Ye C L, Hu S J. Form of nitrogen input dominates N effects on root growth and soil aggregation: a meta-analysis. Soil Biology and Biochemistry, 2021, 157: 108251.

- [70] Pan W K, Zhou J J, Tang S, Wu L H, Ma Q X, Marsden K A, Chadwick D R, Jones D L. Utilisation and transformation of organic and inorganic nitrogen by soil microorganisms and its regulation by excessive carbon and nitrogen availability. Biology and Fertility of Soils, 2023, 59 (4): 379-389.
- [71] Gundersen P, Rasmussen L. Nitrification in forest soils: effects from nitrogen deposition on soil acidification and aluminum release//Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. New York, NY: Springer New York, 1990: 1-45.
- [72] Elrys A S, Chen Z X, Wang J, Uwiragiye Y, Helmy A M, Desoky E M, Cheng Y, Zhang J B, Cai Z C, Müller C. Global patterns of soil gross immobilization of ammonium and nitrate in terrestrial ecosystems. Global Change Biology, 2022, 28(14): 4472-4488.
- [73] Booth M S, Stark J M, Rastetter E. Controls on nitrogen cycling in terrestrial ecosystems: a synthetic analysis of literature data. Ecological Monographs, 2005, 75(2): 139-157.
- [74] Song M H, Yu F H. Reduced compensatory effects explain the nitrogen-mediated reduction in stability of an alpine meadow on the Tibetan Plateau. New Phytologist, 2015, 207(1): 70-77.
- [75] Stevens C J, Manning P, van den Berg L J L, de Graaf M C C, Wamelink G W, Boxman A W, Bleeker A, Vergeer P, Arroniz-Crespo M, Limpens J, Lamers L P M, Bobbink R, Dorland E. Ecosystem responses to reduced and oxidised nitrogen inputs in European terrestrial habitats. Environmental Pollution, 2011, 159(3): 665-676.
- [76] Raven J A, Farquhar G D. The influence of N metabolism and organic acid synthesis on the natural abundance of isotopes of carbon in plants. New Phytologist, 1990, 116(3): 505-529.
- [77] Gerendás J, Zhu Z J, Bendixen R, Ratcliffe R G, Sattelmacher B. Physiological and biochemical processes related to ammonium toxicity in higher plants. Zeitschrift Für Pflanzenernährung und Bodenkunde, 1997, 160(2): 239-251.
- [78] Ingestad T, Ågren G I. Plant nutrition and growth: basic principles. Plant and Soil, 1995, 168(1): 15-20.
- [79] 侯宝林, 庄伟伟. 古尔班通古特沙漠一年生植物的氮吸收策略. 植物生态学报, 2021, 45(7): 760-770.
- [80] Wang L Y, Xin J, Nai H, Zheng X L. Effects of different fertilizer applications on nitrogen leaching losses and the response in soil microbial community structure. Environmental Technology & Innovation, 2021, 23(1496): 101608.
- [81] Lasa B, Frechilla S, Aparicio-Tejo P M, Lamsfus C. Role of glutamate dehydrogenase and phosphoenolpyruvate carboxylase activity in ammonium nutrition tolerance in roots. Plant Physiology and Biochemistry, 2002, 40(11): 969-976.
- [82] Sheppard L J, Leith I D, Mizunuma T, Neil Cape J, Crossley A, Leeson S, Sutton M A, van Dijk N, Fowler D. Dry deposition of ammonia gas drives species change faster than wet deposition of ammonium ions: evidence from a long-term field manipulation. Global Change Biology, 2011, 17 (12): 3589-3607.